

качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб // В кн.: «Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств». Под редакцией член-кор. НАН Украины В.П. Георгиевского. – Харьков: изд. «НТМТ». – Т. 3. – 2011. – С. 934–1063.

Адрес для корреспонденции:

61002, Украина,
г. Харьков, ул. Пушкинская, 53,
Национальный фармацевтический университет,
тел. +380-57- 706-30-71,
ksenapharm@yahoo.com,
Проскура К. И.

Поступила 10.03.2017 г.

В. М. Ёршик, А. И. Жебентяев, О. А. Ёршик, В. И. Фадеев, М. Ю. Емельянов

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОКСИЛАМИНА СУКЦИНАТА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА «РАСТВОРЕНИЕ»

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Разработана методика количественного определения доксиламина сукцината, предназначенная для проведения теста «Растворение». Методика основана на использовании производной спектрофотометрии, что позволяет исключить влияние компонентов матрицы на результаты количественного определения доксиламина сукцината в средах растворения.

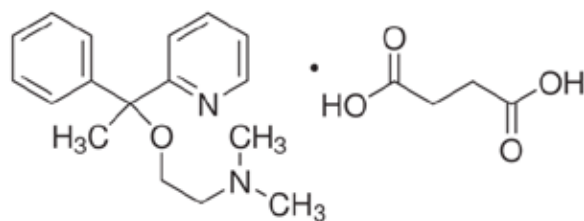
Диапазон определяемых содержаний доксиламина сукцината составляет 18,0–36,0 мкг/мл, что соответствует степени высвобождения из таблеток 60–120%. Методика обладает удовлетворительной специфичностью: величина аналитического сигнала компонентов матрицы не превышает 2% аналитического сигнала, соответствующего степени высвобождения 60%. Относительное стандартное отклонение результатов количественного определения доксиламина сукцината находится в пределах 0,33–1,57%. Открываемость – в пределах 99,0–101,2%.

Исследуемые растворы стабильны не менее 3 часов, после прибавления 4М раствора кислоты хлористоводородной – не менее 30 минут. Методика использована при проведении исследования кинетики растворения лекарственного средства Сондокс таблетки 15 мг в сравнении с оригинальным лекарственным средством Донормил.

Ключевые слова: доксиламина сукцинат (ДС), производная спектрофотометрия, валидация, тест «растворение».

ВВЕДЕНИЕ

Доксиламина сукцинат – N,N-диметил-1-(1-фенил-1-(пиридин-2-ил)этокси)этанамин сукцинат – применяется при расстройствах сна [1].



Количественное определение доксиламина сукцината в лекарственных средствах проводят методом ВЭЖХ [2], спек-

трофотометрическим в УФ-области, экстракционно-фотометрическим по реакции с метиловым оранжевым [3] и другими методами. При исследовании растворения твердых лекарственных форм необходимо проведение анализа значительного количества образцов, поэтому методика количественного определения аналита в среде растворения должна быть экспрессной. Спектрофотометрический метод является достаточно экспрессным, но вспомогательные вещества, входящие в состав таблеток, оказывают значительное влияние на результаты количественного определения этим методом. Одним из вариантов спектрофотометрического метода, позволяющего исключить влияние компонентов

матрицы на результаты измерений, является производная спектрофотометрия.

Целью настоящей работы является разработка и валидация методики количественного определения доксиламина сукцината в средах растворения методом производной спектрофотометрии, применимой при проведении теста «кинетика растворения».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали рабочий стандартный образец доксиламина сукцината (серия 030615, W=100,09%.

Реактивы: вода Р, калия гидроксид (ч.д.а.), калия фосфат двузамещенный (ч.д.а.). Для приготовления растворов плацебо использовали магния стеарат, лактозы моногидрат, крахмал картофельный и целлюлоза микрокристаллическая фармацевтической чистоты [4].

Исследование проводили на спектрофотометре Specord 250 и определителе растворения лекарственных средств.

Методика определения содержания доксиламина сукцината

Испытуемый раствор: среда растворения.

Раствор сравнения: 0,025 г рабочего стандартного образца доксиламина сукцината помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, растворяют в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной, доводят объем раствора до метки этим же растворителем и перемешивают. 3,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивают.

Выполнение испытания: 2,5 мл испытуемого раствора или раствора сравнения помещают в кювету спектрофотометра, прибавляют 100 мкл 4 М раствора кислоты хлористоводородной. Измеряют спектр поглощения полученных растворов на спектрофотометре в диапазоне сканирования от 230 нм до 300 нм, с шагом сканирования 0,5 нм и шириной щели 1 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, рассчитывая значение первой производной для длины волны 259 нм. В качестве компенсационного раствора используют воду Р.

Содержание доксиламина сукцината в испытуемом растворе (X, мкг/мл) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \times m_0 \times P \times 3,0 \times 10^6}{A_0 \times 50,0 \times 50,0 \times 100},$$

где A_1 – значение первой производной оптической плотности испытуемого раствора при 259 нм;

A_0 – значение первой производной оптической плотности раствора рабочего стандартного образца доксиламина сукцината при 259 нм;

m_0 – масса навески рабочего стандартного образца доксиламина сукцината, в граммах;

P – содержание доксиламина сукцината ($C_{21}H_{28}N_2O_5$) в рабочем стандартном образце доксиламина сукцината, в процентах;

3,0 – объем пипетки, мл;

50,0 – объем мерной колбы, мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектр поглощения доксиламина сукцината имеет один максимум поглощения около 262 нм. Удельный коэффициент поглощения доксиламина сукцината при 262 нм невелик и составляет около 232 [5]. Учитывая диапазон значений, в котором возможно проводить измерения оптической плотности с удовлетворительной точностью, исследование кинетики растворения таблеток доксиламина сукцината необходимо проводить только с использованием минимального объема среды растворения 500 мл без последующего разбавления.

Спектры поглощения раствора доксиламина сукцината в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты и в 0,1 М растворе натрия гидроксида имеют некоторые различия [5, 6]. Поэтому для минимизации погрешностей измерения следует проводить при фиксированном значении pH, которое достигается путем внесения в кювету 2,5 мл испытуемого раствора и 100 мкл 4 М раствора хлористоводородной кислоты.

На рисунке 1 представлены спектры поглощения раствора доксиламина сукцината, концентрация которого соответствует степени высвобождения 100%, и соответствующего раствора плацебо.

Компоненты плацебо существенно влияют на результаты измерений оптической плотности при 262 нм, что приводит к получению завышенных результатов.

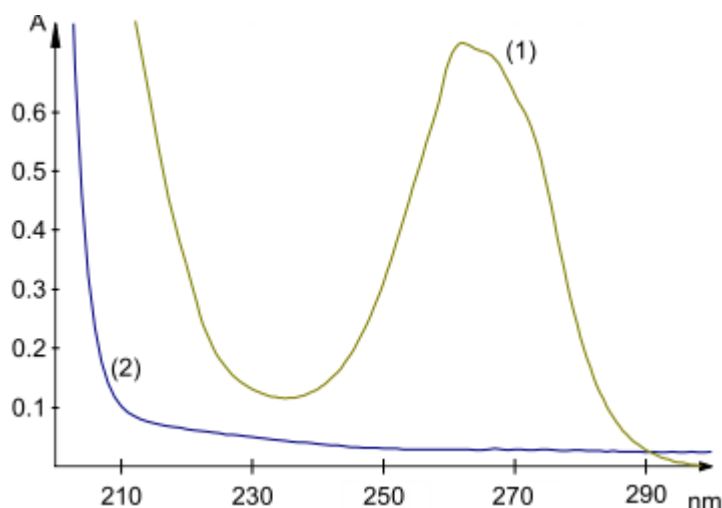


Рисунок 1 – Спектр поглощения раствора доксиламина сукцината 30 мкг/мл (1) и раствора плацебо (2)

При использовании первой производной спектра поглощения доксиламина сукцината (рисунок 2) наблюдается наименьшая систематическая погрешность

определения лекарственного вещества, компоненты плацебо не оказывают влияния на результаты измерений при длине волны 259 нм.

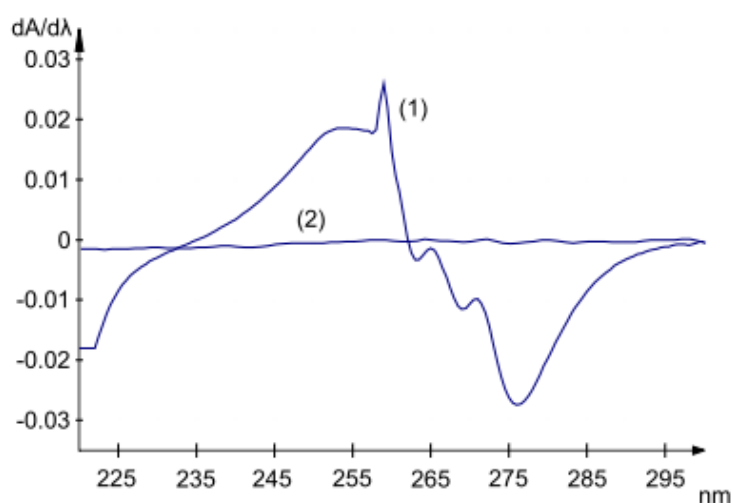


Рисунок 2 – Первая производная спектра поглощения раствора доксиламина сукцината 30 мкг/мл (1) и раствора плацебо (2)

Разработанная методика валидована по основным валидационным параметрам: специфичность, линейность, правильность, точность (внутрилабораторная точность) в диапазоне применения, соответствующем степени высвобождения лекарственного вещества от 60 до 120% (от 18 до 36 мкг/мл), что достаточно для исследования кинетики высвобождения доксиламина сукцината из таблеток [4, 7, 8].

При выполнении процедуры «линейность» построен градуировочный гра-

фик зависимости аналитического сигнала ($dA/d\lambda$) от концентрации доксиламина сукцината, соответствующей 20, 40, 60, 80, 100 и 120% (6, 12, 18, 24, 30 и 36 мкг/мл соответственно) от концентрации доксиламина сукцината, используемой в методике и принятой за 100% (30 мкг/мл). Градуировочный график описывается уравнением $dA/d\lambda = 8,61 \cdot 10^{-4} \cdot C + 1,89 \cdot 10^{-4}$. Значение свободного члена в уравнении градуировочного графика составляет 1,19% от значения аналитического сигнала, соответствующе-

го 60% содержанию доксиламина сукцината (18 мкг/мл). Коэффициент аппроксимации составляет 0,9998.

Для выполнения теста «специфичность» в три среды растворения помещали навеску плацебо и перемешивали в течение 60 минут. Во всех случаях отношение величины аналитического сигнала плацебо и аналитического сигнала, соответствующего 60% содержанию доксиламина сукцината, не превышало 2%.

При выполнении тестов «правильность» и «точность» методики использовали брекетинг: проводили исследования со

средами растворения с крайними значениями pH. Для этого в стакан с 500 мл среды растворения (0,1 М раствор кислоты хлористоводородной или 0,05 М фосфатный буферный раствор с pH 6,8) вносили навеску плацебо и необходимое количество раствора доксиламина сукцината (500 мкг/мл), чтобы получить растворы, соответствующие степени высвобождения лекарственного вещества 60%, 100% и 120%. После перемешивания в течение 60 минут проводили измерения спектров поглощения полученных растворов. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения доксиламина сукцината в средах растворения по методу введено-найдено (n=3, P=0,95)

Степень высвобождения ДС, %	Введено ДС, мкг/мл	Найдено ДС, мкг/мл	R, %	RSD, %
0,1 М HCl				
60	18,0	18,1±0,2	100,6	1,03
100	30,0	30,4±0,4	101,2	1,08
120	36,0	35,5±0,1	98,6	0,33
0,05М фосфатный буферный раствор (pH 6,8)				
60	18,0	18,1±0,3	100,8	1,57
100	30,0	29,8±0,1	99,3	0,35
120	36,0	35,6±0,2	99,0	0,43

Приготовленные растворы доксиламина сукцината устойчивы не менее 3 часов. После прибавления в кювету с испытуемым раствором 100 мкл 4 М раствора кислоты хлористоводородной полученный раствор устойчив не менее 30 минут. Стандартный раствор доксиламина сукцината устойчив не менее 15 суток.

Разработанная методика использована при исследовании кинетики растворения лекарственного средства Сондокс таблетки 15 мг, производства ПАУ «ХФЗ «Красная звезда» в сравнении с лекарственным средством Донормил таблетки 15 мг, производства Bristol-Myers Squibb, Франция. Во всех трех средах растворения степень высвобождения доксиламина сукцината в исследуемых временных точках находилась в диапазоне определяемых содержания разработанной методики.

ВЫВОДЫ

Разработана методика количественного определения доксиламина сукцината, с использованием производной спектрофотометрии.

Диапазон определяемых содержа-

ний доксиламина сукцината составляет 18,0–36,0 мкг/мл. Открываемость находится в пределах 99,0–101,2%. Относительное стандартное отклонение результатов количественного определения доксиламина сукцината находится в пределах 0,33–1,57%.

Разработанная методика пригодна для количественного определения доксиламина сукцината в средах растворения при исследовании кинетики растворения.

SUMMARY

V. M. Yorshyk, A. I. Zhebentyaev,
O. A. Yorshyk, V. I. Fadeev,
M. Y. Emelyanov

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF DOXYLAMINE SUCCINATE FOR DISSOLUTION TESTING

The method for the quantitative determination of doxylamine succinate was developed for conducting the "Dissolution" test. The technique is based on the use of the derivative spectrophotometry that allows excluding the influence of the matrix components

on the results of quantitative determination of doxylamine succinate in dissolution media.

The range of the determined contents of doxylamine succinate is 18,0–36,0 µg / ml, which corresponds to the 60–120% release rate from the tablets. The technique has satisfactory specificity: the magnitude of the analytical signal of the matrix components does not exceed 2% of the analytical signal corresponding to the 60% release rate. The relative standard deviation of the results of the quantitative determination of doxylamine succinate is in the range of 0,33–1,57%. Discoverability is within 99,0–101,2%.

The test solutions are stable for at least 3 hours, after adding of 4M solution of hydrochloric acid – for at least 30 minutes. The technique was used in the study of the kinetics of dissolution of the drug Sondox, tablets, 15 mg in comparison with the original drug Donormil.

Keywords: doxylamine succinate (DS), derivative spectrophotometry, validation, dissolution test.

ЛИТЕРАТУРА

1. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник / М.: Видаль Рус. – 2016 г. – 1240 с.

2. Yehia, A. M. Development and validation of a generic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous separation and determination of six cough ingredients: Robustness study on core-shell particles / A.M. Yehia, H.M. Essam // Journal of Separation Science. – 2016. – Vol. 39, iss. 17. – P. 3357–3367.

3. Разработка тандемной УФ-спектрофотометрической/ экстракционно-фотометрической методики количественного определения доксиламина / Л. Ю. Клименко [и др.] // Здоровоохранение Таджикистана. – 2015. – № 4. – С. 21–30.

4. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытаний в здравоохран.; под общ. ред. А.В. Шерякова. – Молодечно: «Победа», 2012. – 1220 с.

5. Moffat, A. C. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals / A. C. Moffat. – Second Edition. – London: The pharmaceutical press, 1986. – 1684 p.

6. Dibbern, H.W. UV and IR Spectra. Pharmaceutical Substances (UV and IR) and Pharmaceutical and Cosmetic Excipients (IR) [Электрон. ресурс] – Frankfurt/Main und Leofels, September 2002. – электрон. опт. диск (CD-ROM).

7. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Text on validation of analytical procedures, 1994. – 5 p.

8. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний: ТКП 432-2012 (02041).

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра токсикологической
и аналитической химии,
тел. раб. 8(0212) 64-81-34,
Жебентяев А. И.

Поступила 10.03.2017 г.

С. Ю. Висыч, А. В. Доровской, Е. Г. Фетисова, Л. Н. Андриякова

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ ТРАНЕКСАМОВОЙ НА ЭТАПЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ *IN VITRO*

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

В статье рассмотрены результаты валидации методики количественного определения кислоты транексамовой (КТ) методом жидкостной хроматографии при исследованиях ее рН-зависимой растворимости и кинетики высвобождения из генерического и референтного лекарственных средств на этапе исследования биоэквивалентности in vitro. Валидация проведена одновременно для обеих